

L'envelliment prematur en la progèria de Hutchinson-Gilford: aproximacions terapèutiques i correlació amb l'envelliment fisiològic

Treball de final d'estudis - Recerca Bibliogràfica

Maria López Panadès | Grau en Bioquímica | Universitat Autònoma de Barcelona

UAB

Universitat Autònoma de Barcelona

Introducció

La progèria de Hutchinson-Gilford està causada per una mutació silenciosa *de novo* en el gen *LMNA* (c.1824C>T), que codifica per les lamines A i C. Aquesta mutació provoca la utilització d'un lloc d'*splicing* críptic en el pre-mRNA, el qual acaba donant lloc a l'expressió de la progerina, que s'ancora a l'embolcall nuclear.

Síntomes:

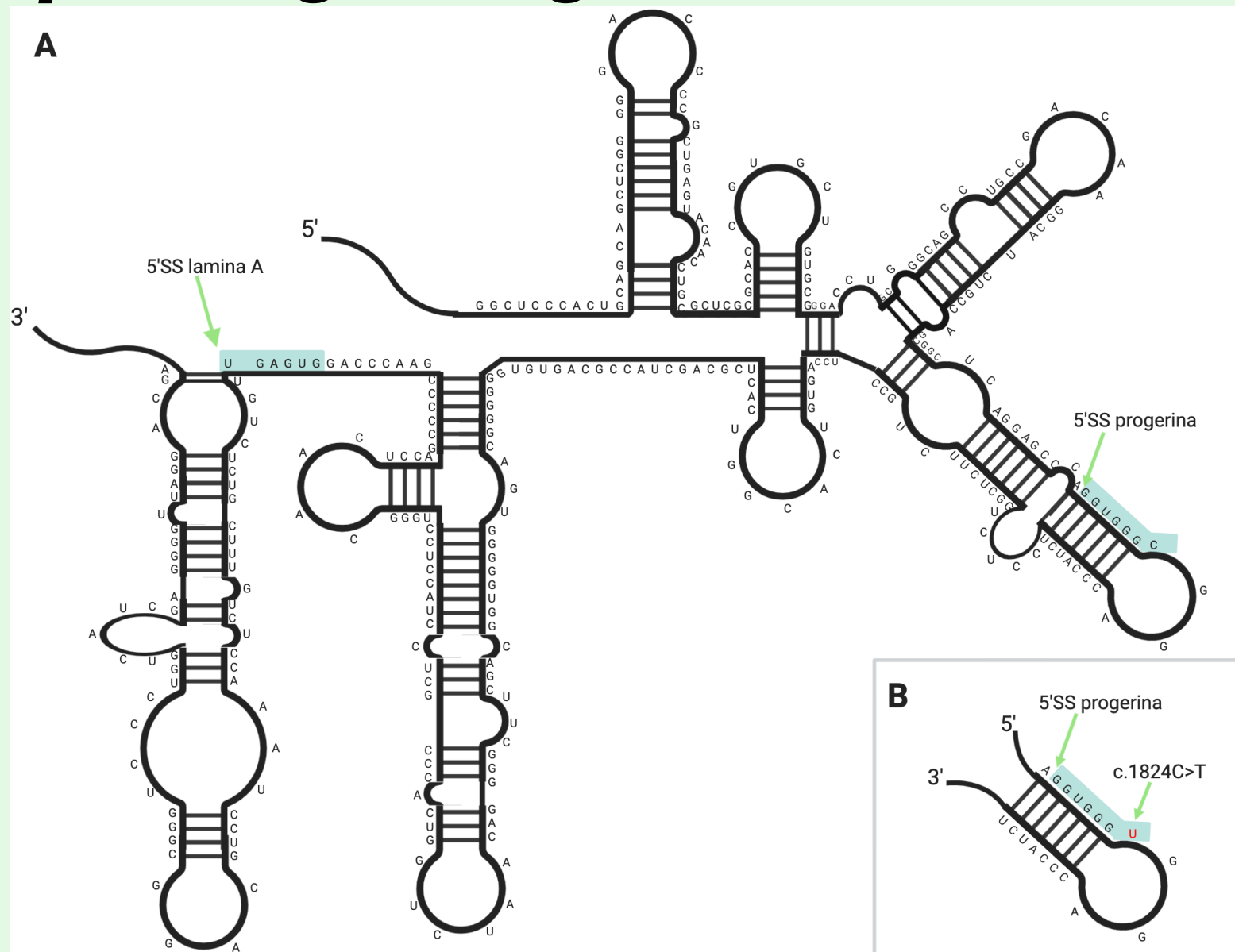
- Problemes en el desenvolupament
- Alopecia
- Problemes de dentició
- Micrognàtia
- Estatura baixa
- Debilitat muscular
- Afeccions cardiovasculars → infarts de miocardi i ictus

Objectius

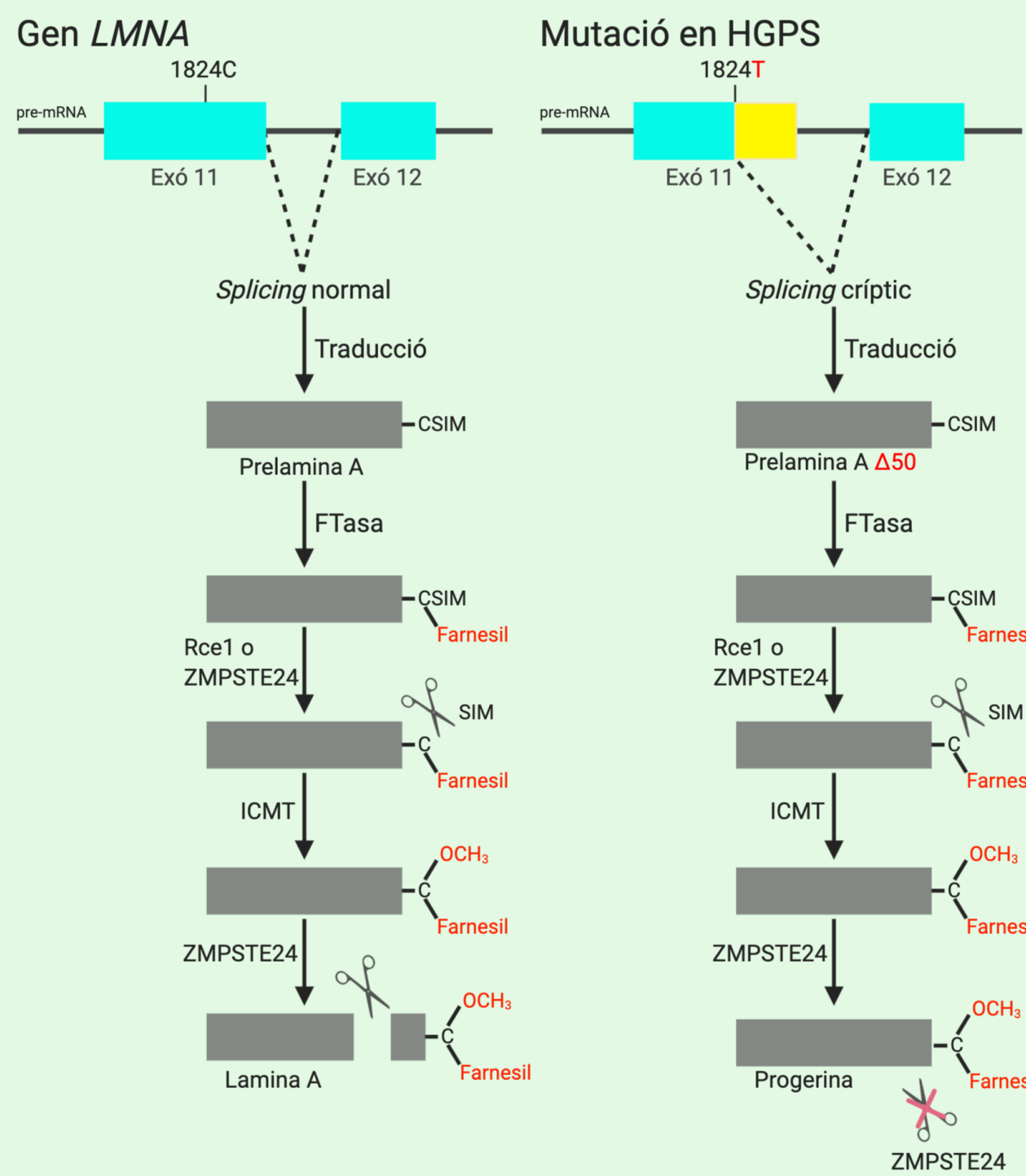
- Conèixer molecularment la progèria de Hutchinson-Gilford
- Distingir les diferents formes de processament dels productes gènics de *LMNA*
- Conèixer les implicacions cel·lulars de l'expressió de progerina
- Fixar-se en les possibles correlacions entre l'envelliment normal i HGPS
- Conèixer les teràpies proposades per tractar aquesta patologia.

Resultats

1. *Splicing* del gen *LMNA*



2. Processament proteic diferencial

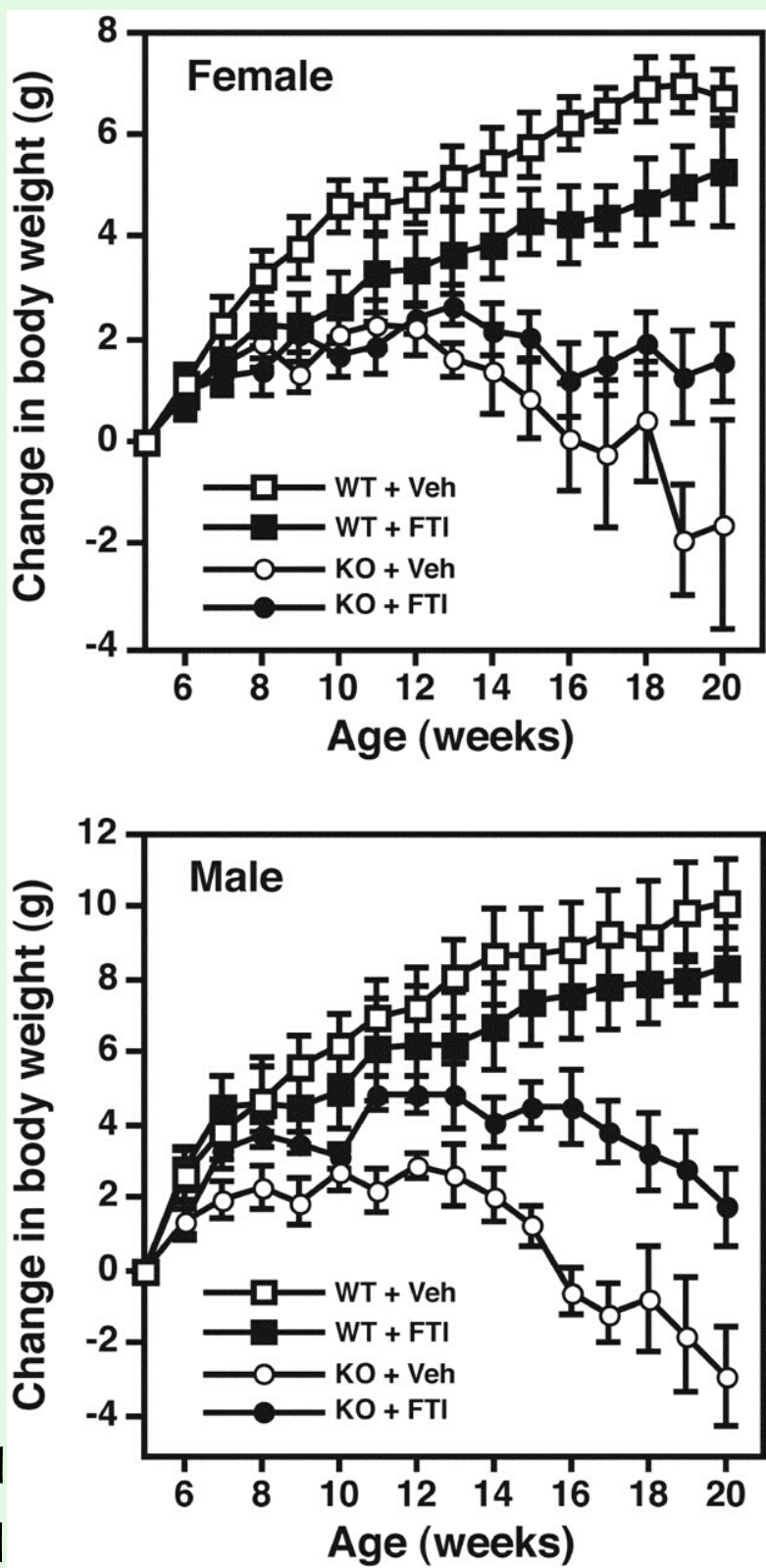


5. Aproximacions terapèutiques

Inhibidors de la farnesiltransferasa (FTIs)

Bloquejar la farnesilació de la progerina restabliria la forma del nucli.

- MEFs que expressaven progerina tractats amb un FTI:
 - progerina al nucleoplasma
 - evaginació reduïda a nivells *wild type*
- Ratolins ZMPSTE24 KO tractats amb ABT-100:
 - disminueix farnesilació proteica
 - més creixement (figura 4)
 - menys fractures a les costelles



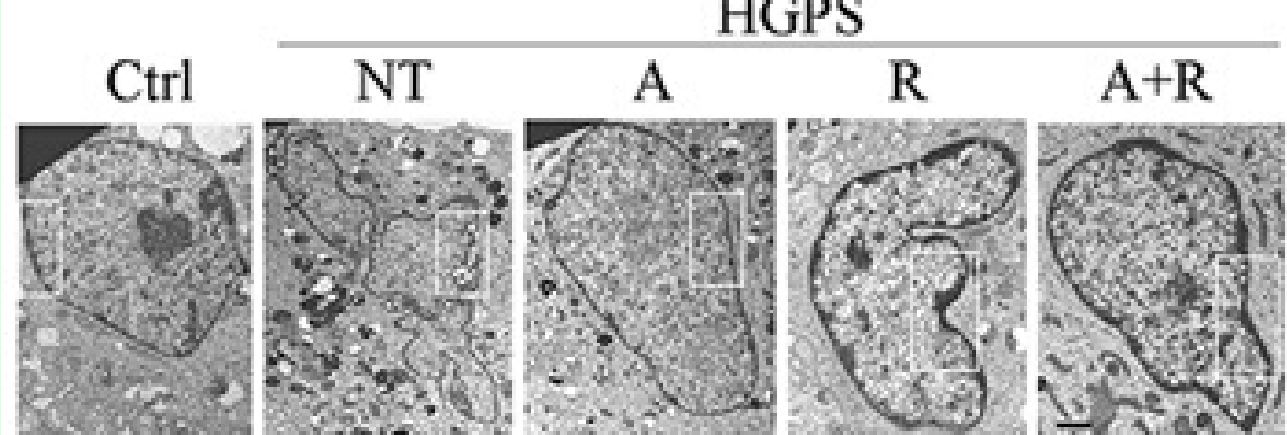
Àcid *all-trans* retinoic (ATRA) i rapamicina (R)

ATRA:

- regula a la baixa l'activitat del promotor d'*LMNA*
- indueix autofàgia, igual que la rapamicina

Tractament de fibroblasts HGPS amb ATRA o ATRA + R:

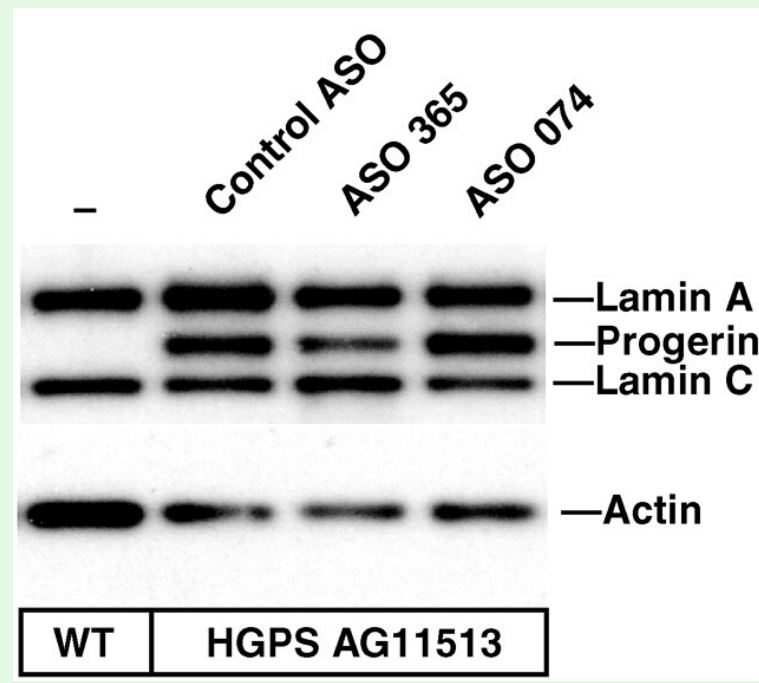
- reducció dels nivells d'mRNA i proteics de progerina i lamina A
- recuperació de la morfologia nuclear (figura 5)
- restauració de la distribució normal d'H3K9me3
- PARP 1 augmenta a nivells basals



Oligonucleòtids *antisense* (ASOs)

Utilitzar oligonucleòtids *antisense* podria modular el lloc d'*splicing* fet servir.

- ASO 365 suprimeix l'*splicing* críptic → disminució dels nivells de progerina (figura 6)
- exo11 (oligonucleòtid de morfollin) bloqueja la maquinària d'*splicing* en la regió 5'SS *progerina* → disminució del 90% de l'mRNA per progerina



Conclusions

- L'*splicing* críptic en l'exó 11 s'utilitza més degut a la mutació silenciosa però no es crea → la mutació li dona preferència.
- La causa de mort principal en HGPS són malalties cardiovasculars → es podrien estudiar en aquests individus (no presenten factors de risc cardiovascular).
- ATRA/rapamicina i FTIs són interessants perquè ja s'han utilitzat per a altres patologies i es coneixen bé. iPSCs, ASOs o RNAi permetrien silenciar l'expressió de progerina.
- Es podria proposar aprofitar la prova del taló en nounats per testar si tenen HGPS. La detecció precoç permetria un tractament el més aviat possible.
- Seguir investigant és necessari, però complicat perquè hi ha pocs individus afectats i models animals que s'haurien de millorar.

Bibliografia

[1] Wang, Y., Östlund, C., & Worman, H. (2010). Blocking protein farnesylation improves nuclear shape abnormalities in keratinocytes of mice expressing the prelamin A variant in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Nucleus*, 1(5), 432-439. <https://doi.org/10.4161/nuc.1.5.12972>

[2] Pellegrini, C., Columbaro, M., Capanni, C., D'Apice, M., Cavallo, C., & Murdocca, M. et al. (2015). All-trans retinoic acid and rapamycin normalize Hutchinson Gilford progeria fibroblast phenotype. *Oncotarget*, 6(30), 29914-29928. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4939>

[3] Yang, S., Bergo, M., Toth, J., Qiao, X., Hu, Y., & Sandoval, S. et al. (2005). Blocking protein farnesyltransferase improves nuclear blebbing in mouse fibroblasts with a targeted Hutchinson-Gilford progeria syndrome mutation. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 102(29), 10291-10296. <https://doi.org/10.1073/pnas.0504641102>

[4] Hamczyk, M., del Campo, L., & Andrés, V. (2018). Aging in the Cardiovascular System: Lessons from Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. *Annual Review Of Physiology*, 80(1), 27-48. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021317-121454>

[5] Lopez-Mejia, I., Vautrot, V., De Toledo, M., Behm-Ansmant, I., Bourgeois, C., & Navarro, C. et al. (2011). A conserved splicing mechanism of the LMNA gene controls premature aging. *Human Molecular Genetics*, 20(23), 4540-4555. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr385>

[6] Cao, K., Blair, C., Faddah, D., Kleckhafer, J., Olive, M., & Erdos, M. et al. (2011). Progerin and telomere dysfunction collaborate to trigger cellular senescence in normal human fibroblasts. *Journal Of Clinical Investigation*, 121(7), 2833-2844. <https://doi.org/10.1172/jci43578>

[7] Fong, L., Frost, D., Meta, M., Qiao, X., Yang, S., Coffinier, C., & Young, S. (2006). A Protein Farnesyltransferase Inhibitor Ameliorates Disease in a Mouse Model of Progeria. *Science*, 311(5767), 1621-1623. <https://doi.org/10.1126/science.1124875>

[8] Fong, L., Vickers, T., Farber, E., Choi, C., Yun, U., & Hu, Y. et al. (2009). Activating the synthesis of progerin, the mutant prelamin A in Hutchinson-Gilford progeria syndrome, with antisense oligonucleotides. *Human Molecular Genetics*, 18(13), 2462-2471. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddp184>

[9] Liu, G., Suzuki, K., Qu, J., Sancho-Martinez, I., Yi, F., & Li, M. et al. (2011). Targeted Gene Correction of Laminopathy-Associated LMNA Mutations in Patient-Specific iPSCs. *Cell Stem Cell*, 8(6), 688-694. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.04.019>

iPSCs

- S'han pogut desenvolupar iPSCs a partir de fibroblasts HGPS → presenten morfologia nuclear normal.
- Al diferenciar-los de nou → el fenotip cel·lular de progèria torna a aparèixer.
- Transfectant iPSCs amb el vector adenoviral LMNA-c-HDAV i un virus *helper* es corregeix la mutació que provoca HGPS → restabliment de l'expressió de lamina A i restabliment de la morfologia nuclear

- També s'ha aconseguit en cèl·lules mare mesenquimals → llinatge del que deriven moltes de les cèl·lules afectades per la mutació a *LMNA*.